

Production of poly-beta-hydroxybutyrate in transformed escherichia coli**Publication number:** JP5507410T**Publication date:** 1993-10-28**Inventor:****Applicant:****Classification:**

- International: C12N1/21; C12N15/52; C12P7/62; C12N1/21;
C12N15/52; C12P7/62; (IPC1-7): C12N1/21;
C12N15/52; C12P7/62; C12P7/62; C12R1/19

- european: C12N15/52; C12P7/62A

Application number: JP19910510838T 19910520

Priority number(s): WO1991US03547 19910520; US19900528549
19900525

Also published as:

WO9118993 (A



EP0535065 (A1



US5334520 (A1



FI925333 (A)



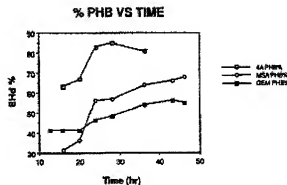
EP0535065 (A0

Report a data error he

Abstract not available for JP5507410T

Abstract of corresponding document: **US5334520**

Methods are provided for enhancing the production of PHB from a transformed *E. coli* host which includes the genes coding for the PHB biosynthetic pathway. By inserting the genes coding for PHB into a host which includes a lactose utilization system, a low cost minimal medium including whey can be used as the fuel and carbon source for PHB production. A plasmid which codes for the PHB biosynthetic pathway plus four hundred extra bases on either side of the first and last genes in the pathway has been inserted into the host and has been shown to produce a larger amount of PHB accumulation in a shorter period of time than other plasmid constructs. CaCl₂ has been shown to be an effective agglomerating agent for agglomerating PHB which has been produced in a transformed *E. coli* host.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

④ 公表特許公報(A)

平5-507410

④ 公表 平成5年(1993)10月28日

④ Int. Cl. ³ C 12 N 1/21 15/52	④ 識別記号 7238-4B 8831-4B	④ 庁内整理番号 7238-4B 8831-4B	④ 審査請求 未請求 予備審査請求 有	④ 未請求 有	④ 部門(区分) 1(1)
		④ C 12 N 15/00		④ A ※	④ (全7頁)

④ 発明の名称 形質転換したエセリキヤ・コリにおけるポリ-β-ヒドロキシ酸塩の改良生成

④ 特 願 平3-510838
④ 出 願 平3(1991)5月20日

④ 特許文提出日 平4(1992)11月25日
④ 国 際 出 願 PCT/US91/03547
④ 国際公開番号 WO91/18993
④ 国際公開日 平3(1991)12月12日

④ 優先権主張 ④ 1990年5月25日 米国(U.S.) ④ 528,549

④ 発 明 者 デニス、ダグラス・イー	④ アメリカ合衆国22486バージニア州、ウエイヤーズ・ケイブ、ボックス92エ、ルート 2番
④ 出 願 人 センター・フォー・イノベティ イブ・テクノロジー	④ アメリカ合衆国22070バージニア州、ハーンドン、ロフク・ヒル・ロード 2214番、スイート600、スアイティ・ビルディング
④ 代 理 人 弁理士 青山 基 外2名	
④ 指 定 国 AT(広域特許)、AU、BE(広域特許)、CA、CH(広域特許)、DE(広域特許)、DK(広域特許)、ES(広域特許)、FI、FR(広域特許)、GB(広域特許)、GR(広域特許)、IT(広域特許)、JP、KR、LU(広域特許)、NL(広域特許)、SE(広域特許)	

最終頁に続く

④ 説 明 書

このように私の発明を述べたように、私の新案なものとして開示し、特許証により保護することを目指すものは以下に述べる。

1. ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応をコードするデオキシリボ核酸を含んでいるベクターにより形質転換されたラクトース利用系を有するエセリキヤ・コリ細菌株。
2. 該デオキシリボ核酸配列が、該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において、3つの遺伝子配列の最初の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する最初の400ヌクレオチド塩基及び該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において、該3つの遺伝子配列の第3の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する第2の400ヌクレオチド塩基をほぼ含む請求項1のエセリキヤ・コリ細菌株。
3. 以下のATCC寄託番号68329を有する菌株2つのエセリキヤ・コリ細菌株。
4. 該菌株のエセリキヤ・コリ株HMS 174から誘導される請求項1のエセリキヤ・コリ細菌株。
5. 該ベクターがプラスミドpT2.18Uである請求項1のエセリキヤ・コリ細菌株。
6. ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応をコードするデオキシリボ核酸配列を含んでいるベクターにより形質転換されたエセリキヤ・コリ細菌株であって、該エセリキヤ・コリ細菌株は、両方ともにおいてポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応のための炭素源として該エセリキヤ・コリを用いることができる。
7. 該デオキシリボ核酸配列が、該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において3つの遺伝子配列の最初の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する最初の400ヌクレオチド塩基及び該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において、該3つの遺伝子配列の第3の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する第2の400ヌクレオチド塩基をほぼ含む請求項3のエセリキヤ・コリ細菌株。
8. ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応をコードするデオキシリボ核酸配列

列を含んでいるベクターにより形質転換されたエセリキヤ・コリ細菌株であって、該エセリキヤ・コリ細菌株は両方ともにおいてポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応のための炭素源として該エセリキヤ・コリを用いる能力を有する。

9. 該デオキシリボ核酸配列が、該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において、3つの遺伝子配列の最初の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する最初の400ヌクレオチド塩基及び該ポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応において、該3つの遺伝子配列の第3の3つのデオキシリボ核酸配列に位置する第2の400ヌクレオチド塩基をほぼ含む請求項3のエセリキヤ・コリ細菌株。
10. 該小塩基及び該エセリキヤ・コリを用いる能力を有するポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応のための炭素源であって、両方ともにおいてエセリキヤ・コリを用いる能力を有するポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応のための炭素源として該エセリキヤ・コリを用いる能力を有する。
11. 該小塩基が該塩基の約20%であり、該エセリキヤ・コリが該塩基の約40%であり、そして水が該塩基の約40%である請求項10の塩基。
12. 0.8%パーセントNa₂HPO₄、
0.3%パーセントKH₂PO₄、
0.1%パーセント酸化アンモニウム、
0.05%パーセント酸化ナトリウム、
5.8-8.4%パーセント硝酸マグネシウム、
0.012%パーセント硝酸ナトリウム、
0.0005%パーセントチミン、
0.01%パーセントガザン酸及び
40%パーセントの水溶液

をほぼ含む、形質転換されたエセリキヤ・コリ菌株によりポリ-β-ヒドロキシ酸塩生成反応を促進するための塩基。

13. 以下の炭素源を含むポリ-β-ヒドロキシ酸塩の製造法。
エセリキヤ・コリ細菌株の増殖を促進すること、各菌株はラクトース利用系

を育し、各宿主は、ポリマーとドロキシ酸塩生成反応路をコードするデオキシリボ核酸配列を含んでいるベクターにより形質転換されている。

ホエイを含んでいる最小単位に24時間より次の期間、エセリキア・コリ菌宿主の該培養を生育すること、該エセリキア・コリ菌宿主の各々は細胞内のポリマーとドロキシ酸塩を生成する。

該培養中に該エセリキア・コリ菌宿主を溶解し、溶液中に該ポリマーとドロキシ酸塩を放出すること、及び

該ポリマーとドロキシ酸塩を調製すること。

14. 調製することの該段階が精製したエセリキア・コリ菌宿主及びポリマーとドロキシ酸塩を含んでいる該培養を調製マダニウム、酸化マダニウム、酢酸マダニウム及び酸化カルシウムからなる群から選ばれたイオン試薬にさらす段階を含み、該イオン試薬は該ポリマーとドロキシ酸塩を酸化すること十分な濃度である請求項13の方法。

15. 該イオン試薬が1モルと1ミリモルの間にわたる濃度で酸化カルシウムである請求項14の方法。

16. 酸化カルシウムが約10ミリモルの濃度である請求項15の方法。

17. 以下の段階を含むポリマーとドロキシ酸塩の製造法。

エセリキア・コリ菌宿主の該培養を供給すること、各宿主はポリマーとドロキシ酸塩生成反応路をコードしているデオキシリボ核酸配列を含んでいるベクターにより形質転換されており、各宿主はポリマーとドロキシ酸塩の生成のために炭素源としてホエイを用いる能力を有する。

ホエイを含んでいる最小単位に24時間より次の期間エセリキア・コリ菌宿主の該培養を生育すること、該エセリキア・コリ菌宿主の各々は細胞内のポリマーとドロキシ酸塩を生成する。

該培養中に該エセリキア・コリ菌宿主を溶解し、溶液中に該ポリマーとドロキシ酸塩を放出すること、及び

該ポリマーとドロキシ酸塩を調製すること。

明 細 書

形質転換したエセリキア・コリに依り得るポリマーとドロキシ酸塩の製造法

技術分野

本発明は、一般にポリマーとドロキシ酸塩(PHB)の生成反応路をコードしている遺伝子を有しているベクターにより遺伝的に形質転換されたエセリキア・コリ(イー・コリ)を用いるPHBの生成に、より詳しくは形質転換されたイー・コリでのPHBの効率的生産に関する。

背景技術

PHBは環境ストレスに対する種々の細菌により生成されるエネルギー貯蔵材であり、ポリプロピレンに似た性質を有するD-(-)-3-ヒドロキシ酸塩のホモポリマーである。PHBは生物分解可能な、バイオごみの焼却影響を減らすために他のプラスチック材料とは対照的にバイオベースを目的にPHBを有することにかんがりの興味がある。PHBは、衣、放電部品、ドラッグ・デリバリー、界面活性及び骨格増強剤に有用性を有する。PHBはアルカザンホエー・エウロフス(エー、エウロフス)から商業的に生成される。異なるバイオ由来の工下に販売される。

スクラーク等による文獻「グリーン・アング・エクスプレッション・イン・エセリキア・コリ・オブ・D-(-)-3-ヒドロキシ酸塩・エウロフス」E-18ポリマーB-ヒドロキシ酸塩・バイオシンセティック・パスウェイ、ジャーナル・オブ・バクテリア、1970巻10号、1988年10月、4431-4436頁に記載されるように、イー・コリは、PHB生成反応路をコードするエー、エウロフスから遺伝子で遺伝的に形質転換することが行われた。イー・コリは、細菌、イー・コリを取扱うに十分に知られているので、用い、イー・コリはより容易に調製され、集められるので、エー、エウロフスよりもPHBを生成することによりはるかに良質なベクターである。形質転換したイー・コリは比較的大量にPHBを調製した。

18. 以下の段階を含む形質転換されたエセリキア・コリ菌宿主の場合に、細胞内に生成したポリマーとドロキシ酸塩を回収する方法であって、該宿主はポリマーとドロキシ酸塩生成反応路をコードしているデオキシリボ核酸配列を含んでいるベクターにより形質転換されている。

該エセリキア・コリ菌宿主を溶解し、溶液中に該ポリマーとドロキシ酸塩を放出すること、

該酸化マダニウム、酸化マダニウム、酢酸マダニウム及び酸化カルシウムからなる群から選ばれた十分な量のイオン試薬を加えること、該十分な量のイオン試薬は該溶液中、該ポリマーとドロキシ酸塩を酸化する、及び

該酸を遊離して該酸化したポリマーとドロキシ酸塩をペレット化すること。

19. 該イオン試薬の酸化カルシウムである請求項18の方法。

20. 酸化カルシウムが1モルと1ミリモルの間にわたる濃度で存在する請求項18の方法。

21. 酸化カルシウムが約10ミリモルの濃度で存在する請求項20の方法。

22. ポリマーとドロキシ酸塩生成反応路において、3つの遺伝子配列の最初のDNA配列に位置する最初の400のヌクレオチド塩基及びポリマーとドロキシ酸塩生成反応路において、3つの遺伝子配列の第3のDNA配列に位置する第2の400のヌクレオチド塩基をほぼ完全に有する無制限に、分離されたDNA配列。

23. p4Aとして設計され、菌感受性8338の下にエセリキア・コリ株MS174がジ・アマリコン・タイプ・カルチャー・コレクションに寄託されたプラスミド。

24. ベクターが4Aプラスミドを含む請求項13の方法。

25. ベクターが4Aプラスミドを含む請求項17の方法。

26. ベクターが4Aプラスミドを含む請求項18の方法。

他の材料以上のPHBの利便にもかかわらず、生成が実用であるので市場での実用を妨げて来た。最近PHBは、ポリプロピレン(PP)イー・コリを生育し、炭素源としてグルコースを用いることにより形質転換されたイー・コリに生成させる。PHBの生成コストの約1/5はPPに等しいが、炭素源及びグルコースのコストに相当する。高価でない炭素源を利用できればPHB生成の全体のコストは有望に減らすことができる。加えて、PHB生成の全体のコストの多くは、イー・コリ中に生成されたPHBを精製するに相当することができる。最近、PHBは遠心、次いで乾燥の連続的処理によりPHBを抽出し、高純度のPHBを得るとし、最後にスプレードライ段階で精製された粒子を得ることにより精製する。もしイー・コリからPHBを集める高価でない方法が入手できれば、PHB生成の全体のコストは有望に減らすことができる。

発明の開示

従って、形質転換されたイー・コリにPHBを生成する改良された技術を提供することが本発明の目的である。これらでイー・コリより高いレベルでPHBを蓄積させ、生育条件のためにホエイを含んでいる最小単位を用いることができる形質転換されたイー・コリ株を提供することが本発明の他の目的である。イオン試薬を用い無制限にイー・コリ菌からPHB粒子を分離する方法を提供することが本発明のさらに他の目的である。

本発明により、イー・コリ、の例、菌株イー・コリMS174がPHB生成反応路及び細胞の上流及び下流の約400の塩基の塩基を有するプラスミドを含んでいるベクターにより形質転換された。イー・コリMS174株は、それがグルコース利用性を有し、細胞欠陥で、そのためグルコース運搬体を含んでいるプラスミドが組み込まれず、運搬体不安定にしないので選ばれた。ホエイはチーズ製造からの副産物で非常に安い。形質転換したイー・コリの株がホエイを含んでいる最小単位で生育し約8%のPHBの平均収量(PHB乾燥重量/全細胞乾燥重量)を有することを示す実験がなされた。加えて、形質転換されたイー・コリに生成したPHBが付いたイオン試薬で取り出すことを示す実験

がなされた。複製されたP_HBを大量に回収するため、形態転換されたイー、コリ細胞はまず機械的に物理的手段、例えば音波処理により又は遠位の手段により溶解する。次いで細胞は、イオン性、例えば100リットル(mM)緩化カルシウム(CaCl₂)中でインキュベートし、P_HB粒子を散らす。最後に懸濁液は低速で凍結物から凍結する。実際は、凍結物中の塩と金で(100%)のP_HBはこの方法により取り、回収されることを示す。結果は、同じ量の塩化がエー、エトロフスからP_HBを回収するには不可能であるの特に特徴的である。

局所の標準化説明

前述の及び他の目的、表面及び利点は、図面を引用して本発明の好ましい実施例の以下の詳細な記載からよりよく理解されよう。図において、

図1は、P_HB管理対照を含むプラスミド複製物を食っている菌々のイー、コリクローン後の時間を示すグラフである。

図2及び2bは最小増殖及びホエイを用いる形態転換されたイー、コリにより生成したP_HBの量を示すグラフである。

図3は、CaCl₂を用いるP_HB生成のパーセントのP_HBを示すグラフである。

図4は、P_HB生成に対するP_HBが複製細胞のプラスミドの存在で変換し、次いで酸化手段に付される時間を示すグラフである。そして、

図5は、P_HB生成に対する乳糖と乳及びカルシウムの対照の結果を示すグラフである。

複製細胞のベストモード

図1、より詳しくは図1を利用して、プラスミドpH44を含むイー、コリ株HMS174は、異なるプラスミド複製物を食っている他のイー、コリクローンよりも速い期間により大きなパーセントのP_HBを管理することを示す。イー、コリ株HMS174はエー、コリ、ストロク、セントラ、バーバ、バクマン、支那から入手できる。p44プラスミドはP_HB生成成績及びペクタートP2-18U上P_HB生成成績の上昇及び下降に約400の百分の増減

を有する。ペクタートP2-18Uはユナイテッド・ステイツ・バイオケミカルズから入手できる。MSAは、ペクタートP2-18U上にP_HB生成成績及び他の場合プラスミド上フッ化pH1.74から0.5の導電性を有することであり異なる(即ちP_HB生成成績はP2-18Uにクローンされた「MSA」と呼ばれるP2-18U上P_HBを作り、P4Aは、プロメーグ・コーポレーションから入手できるペクタートP2-18U上のP_HB生成成績の上昇に約pT2-18U上P_HB40より少ない増減である。

p4A、pT2-18U上P_HB(MSA)及びpGEM7-P_HB(GEM)クローンは、全て、使用の分子クローン技術を用いて引用し、導入された同時系統特許出願及び特許されたP_HB生成成績を含むイー、コリクローンから生成される。特許出願及び特許論文で開示したように、P_HB生成成績はエー、エトロフスから分離し、イー、コリで複製できる。生成成績は約5ヶ年経過後までオートクレーブ、NADP-結合アセトアセチルエー、ニグミドA(CaA)レクタート及びP_HBシンターゼをコードする遺伝子を含んでいる。図1はMSA及びGEMクローンがP4Aクローンは多くP_HBを生成しないことを示す。

イー、コリHMS174はそれがラクトース利用を含み、そしてそれが糖欠乏であるので適宜と選んだ。糖欠乏株は、ラクトース濃度低分を含むプラスミドが複製する。複製物を不変にしないことを保証する。以下に述べるように、HMS174でのラクトース利用系に依存するイー、ホエイ、その生成分がラクトースである糖基産物生成はP_HB生成の成績として用いられる。形態転換されたイー、コリ株を作ることについて、P_HB生成成績プラスミドユナイテッド・ステイツ・バイオケミカルズ・ペクタートP2-18UにクローンされたP_HB生成成績の400増減上及び下変化するプラスミドp44は、イー、コリHMS174に複製される。p44プラスミドを含むイー、コリの株は、1990年5月23日に12801パークローン・ドライブ・

ロジャヴィル、MSDのフ・アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションに販売される。特許番号686229を有する。

p44プラスミドで形態転換したイー、コリのHMS174株がホエイを食っている最小増殖に生育できることを示す実験が行われた。用いられた最小増殖はほとんどの数値物理的定数テストに記録されるM9最小増殖であった。図1はM9最小増殖の5X濃度の方向を示し、表示した成分の各々は1リットルプラスミドに加え、水は1リットルまで加える。

表1

5X Mの最小増殖地
30g Na ₂ HPO ₄
15g K ₂ H ₂ PO ₄
5g NH ₄ Cl
2.5g NaCl

ホエイは、シグマ・ケミカルズからウシホエイの粉末として得、100mlの最終量を有する水に20gのホエイを溶解することにより作った。溶液は約30分間ゆるやかに加熱して行なった。100ccのこの溶液をオートクレーブにかけ、滅心の脱酸素した瓶子を10分間100ccで滅心することによりペレットとした。凍っての上清をホエイ濃度として用いた。

実際は、プラスミドp44を含むイー、コリ株を平板培養から50mlのM9最小増殖ホエイ溶液に接種した。図2は、8%の最終濃度でホエイを食っている50mlの最小増殖から取った結果を示す。

表2

P _H B生成用最小増殖ホエイ
10ml 5X M9地
20ml 66H ₂ O(2田苗水)
50ml 1M MgSO ₄
50ml 0.5M チアミン

250ml 20% カゼイン

20ml 20% ホエイ濃度

接種した細胞は250mlホエイ濃度(Milford)プラスミド300rpmでオーギルン・キューバ・ターシャーマーで37℃で48時間培養した。48時間のインキュベーション時、培養を止めて細胞を凍めた。ガスケットでグラフィーを用いてP_HB量を分析した。

図2及び2bはそれぞれ、細胞の全重量で割った細胞当りのP_HB量として算出した細胞中に蓄積したP_HBのパーセント及び最小増殖を食っている状態のホエイに対し、mg/mlとしたP_HBとして算出した細胞中のP_HBの収量を示す。図2及び2bは、ホエイに低濃度のホエイ、即ち濃度2%でさえ、高濃度のP_HB管理(即ち90%より大)及び高濃度のP_HB(即ち約10l/ml)であることを示す。図2及び2bは高濃度のホエイを有する増殖地より大きな濃度及び収量のP_HBを生成する傾向があることを示す。ホエイ濃度が8%を増えた後、P_HB生成が下り始めることが認められた。

上の実験で、P_HB生成は48時間のインキュベーション後、液分されたが、有酸素なP_HB生成が24時間のインキュベーション後、観察されたことに注意すべきである。加えて、5X M最小増殖地でのNa₂HPO₄、NH₄Cl及びNaClの比較濃度及び5X M最小増殖、2田苗水、M6SO₄、チアミン、カゼイン濃度及びホエイ濃度の比較濃度は変えることができ、一方ラクトース利用系を有する形態転換されたイー、コリ株は、それらの細胞がここに存在するラクトース利用系を有しないので、培養液としてのホエイを用いて生育できなかった。P_HBは、その

ホエイが最小増殖に存在するP_HBの生成に炭素源としてホエイを用いることは、P_HB生成にグルコースを等しい増殖を用いる実行段階の条件を述べたかのような費用削減となることが期待される。P_HB生成成績をコードしているプラスミドを有し、同時系統特許出願及び特許された実行段階の形態転換されたイー、コリ株は、それらの細胞がここに存在するラクトース利用系を有しないので、培養液としてのホエイを用いて生育できなかった。P_HBは、その

細菌もラクトース利用能に欠けるので、その炭素源としてホエイを用いた菌体の増殖、アルカリゲネス・エクトロフィスに生成される。加えて図1に示されるように、特殊なプラスミド *pda* で特異的なイー、コリ菌主を形質転換することは、イー、コリがPHB生成能をコードする異なるベクターで形質転換された場合よりも高いパーセントでPHBを生成させる。

P7日目はその巻頭の扉面(表紙、エポス・トップ)より切り取り、コリに貼進められ、その上で、出版人は原稿紙に貼ったP7を、コリより生成したP7と見做す。つまり、P7のコリに生成したP7はP7の原稿紙の複製物と見做すとするのである。特に原稿紙は、複製物と見た時に、コリより生成されたP7が表紙のP7と見做すように生成されることを規定するものとして成立したものである。実際にこうしたP7は、上で述べたように同時期原稿紙及び出版品と見做すように生成された複製物とされたP7、コリに生成した。結果として、P7日と生成される1日とP7コースを念ひてみる(P7コース(LB)中24時間7分7秒で複製プログラム動作で発生する。複製工程は2(3.000秒)より1秒以上1秒未満、1秒以上の時間と等しいものに再帰する性質。結果を次で複製品より切り取り、慣れ合いのアイコン紙面に追加した。第31号のアイコン紙面による複製物とされたP7、コリに生成したP7及びその複製品。

表 3

溶液*	異色程度**
KH_2PO_4	++
NaCl	+
CaCl_2	-
MgSO_4	+++
K_2HPO_4	+
MgCl_2	++++
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	+

CaCl₂の濃度を異なるF/H日のパーメント対照液に異なるF/H日のパーメントを決定するに実効があることを。真鍮において、イモ、コリのP-H-生成物は、1.5%硫酸銅がコリスを完全にシリカペースト、2.4時間37°Cで乾燥、プラスモルで変質した。真鍮は毎分2.0(0.00 x g/s)分配機によりパーメントと1、次いで売の塩に等しい量の水により薄層した。次いで真鍮を硫酸により薄層した。硫酸は1 M硫酸カルシウム溶液の添加により1.0 Mとされた。賣を1.0分間分けてシェットにより、次いで40 x 0.2分間分けて。酸化したP-H粒子がペレットした。1.5分間の編成時間により薄層された。売により薄層を再行した。ペレット及び薄層に異なるF/H日の分配を決定するためペレットと薄層を電着法でカソードリファイ又は阳极シレクション装置を用いて測定した。

図3は培養における株とんど金で(100%)のPHBが上記方式により酸化し回収されたことを示す。この実験でPHBの量はガス相色谱マトグラフィーでのみ測定した。この実験はプラスコの容量が酸化の程度に影響するかどうかを測定するため薬つきの明確な容量で行ない、全ての容量において、全てのPHBが酸化し、溶媒により實質的にペレツト化することが判った。

図4は培養は開始に十分な時間経過することによって極度に濃縮であり、また収率が極めて高くなることを示す。培養液10mM CaCl₂に調製した後、同様に2分、5分、10分、15分、30分、60分、90分、120分、150分、180分、210分、240分、270分、300分、330分、360分、390分、420分、450分、480分、510分、540分、570分、600分、630分、660分、690分、720分、750分、780分、810分、840分、870分、900分、930分、960分、990分、1020分、1050分、1080分、1110分、1140分、1170分、1200分、1230分、1260分、1290分、1320分、1350分、1380分、1410分、1440分、1470分、1500分、1530分、1560分、1590分、1620分、1650分、1680分、1710分、1740分、1770分、1800分、1830分、1860分、1890分、1920分、1950分、1980分、2010分、2040分、2070分、2100分、2130分、2160分、2190分、2220分、2250分、2280分、2310分、2340分、2370分、2400分、2430分、2460分、2490分、2520分、2550分、2580分、2610分、2640分、2670分、2700分、2730分、2760分、2790分、2820分、2850分、2880分、2910分、2940分、2970分、3000分、3030分、3060分、3090分、3120分、3150分、3180分、3210分、3240分、3270分、3300分、3330分、3360分、3390分、3420分、3450分、3480分、3510分、3540分、3570分、3600分、3630分、3660分、3690分、3720分、3750分、3780分、3810分、3840分、3870分、3900分、3930分、3960分、3990分、4020分、4050分、4080分、4110分、4140分、4170分、4200分、4230分、4260分、4290分、4320分、4350分、4380分、4410分、4440分、4470分、4500分、4530分、4560分、4590分、4620分、4650分、4680分、4710分、4740分、4770分、4800分、4830分、4860分、4890分、4920分、4950分、4980分、5010分、5040分、5070分、5100分、5130分、5160分、5190分、5220分、5250分、5280分、5310分、5340分、5370分、5400分、5430分、5460分、5490分、5520分、5550分、5580分、5610分、5640分、5670分、5700分、5730分、5760分、5790分、5820分、5850分、5880分、5910分、5940分、5970分、6000分、6030分、6060分、6090分、6120分、6150分、6180分、6210分、6240分、6270分、6300分、6330分、6360分、6390分、6420分、6450分、6480分、6510分、6540分、6570分、6600分、6630分、6660分、6690分、6720分、6750分、6780分、6810分、6840分、6870分、6900分、6930分、6960分、6990分、7020分、7050分、7080分、7110分、7140分、7170分、7200分、7230分、7260分、7290分、7320分、7350分、7380分、7410分、7440分、7470分、7500分、7530分、7560分、7590分、7620分、7650分、7680分、7710分、7740分、7770分、7800分、7830分、7860分、7890分、7920分、7950分、7980分、8010分、8040分、8070分、8100分、8130分、8160分、8190分、8220分、8250分、8280分、8310分、8340分、8370分、8400分、8430分、8460分、8490分、8520分、8550分、8580分、8610分、8640分、8670分、8700分、8730分、8760分、8790分、8820分、8850分、8880分、8910分、8940分、8970分、9000分、9030分、9060分、9090分、9120分、9150分、9180分、9210分、9240分、9270分、9300分、9330分、9360分、9390分、9420分、9450分、9480分、9510分、9540分、9570分、9600分、9630分、9660分、9690分、9720分、9750分、9780分、9810分、9840分、9870分、9900分、9930分、9960分、9990分、10020分、10050分、10080分、10110分、10140分、10170分、10200分、10230分、10260分、10290分、10320分、10350分、10380分、10410分、10440分、10470分、10500分、10530分、10560分、10590分、10620分、10650分、10680分、10710分、10740分、10770分、10800分、10830分、10860分、10890分、10920分、10950分、10980分、11010分、11040分、11070分、11100分、11130分、11160分、11190分、11220分、11250分、11280分、11310分、11340分、11370分、11400分、11430分、11460分、11490分、11520分、11550分、11580分、11610分、11640分、11670分、11700分、11730分、11760分、11790分、11820分、11850分、11880分、11910分、11940分、11970分、12000分、12030分、12060分、12090分、12120分、12150分、12180分、12210分、12240分、12270分、12300分、12330分、12360分、12390分、12420分、12450分、12480分、12510分、12540分、12570分、12600分、12630分、12660分、12690分、12720分、12750分、12780分、12810分、12840分、12870分、12900分、12930分、12960分、12990分、13020分、13050分、13080分、13110分、13140分、13170分、13200分、13230分、13260分、13290分、13320分、13350分、13380分、13410分、13440分、13470分、13500分、13530分、13560分、13590分、13620分、13650分、13680分、13710分、13740分、13770分、13800分、13830分、13860分、13890分、13920分、13950分、13980分、14010分、14040分、14070分、14100分、14130分、14160分、14190分、14220分、14250分、14280分、14310分、14340分、14370分、14400分、14430分、14460分、14490分、14520分、14550分、14580分、14610分、14640分、14670分、14700分、14730分、14760分、14790分、14820分、14850分、14880分、14910分、14940分、14970分、15000分、15030分、15060分、15090分、15120分、15150分、15180分、15210分、15240分、15270分、15300分、15330分、15360分、15390分、15420分、15450分、15480分、15510分、15540分、15570分、15600分、15630分、15660分、15690分、15720分、15750分、15780分、15810分、15840分、15870分、15900分、15930分、15960分、15990分、16020分、16050分、16080分、16110分、16140分、16170分、16200分、16230分、16260分、16290分、16320分、16350分、16380分、16410分、16440分、16470分、16500分、16530分、16560分、16590分、16620分、16650分、16680分、16710分、16740分、16770分、16800分、16830分、16860分、16890分、16920分、16950分、16980分、17010分、17040分、17070分、17100分、17130分、17160分、17190分、17220分、17250分、17280分、17310分、17340分、17370分、17400分、17430分、17460分、17490分、17520分、17550分、17580分、17610分、17640分、17670分、17700分、17730分、17760分、17790分、17820分、17850分、17880分、17910分、17940分、17970分、18000分、18030分、18060分、18090分、18120分、18150分、18180分、18210分、18240分、18270分、18300分、18330分、18360分、18390分、18420分、18450分、18480分、18510分、18540分、18570分、18600分、18630分、18660分、18690分、18720分、18750分、18780分、18810分、18840分、18

MgOAc	++++
NaOAc	++
KCl	-
KOAc	-
CsCl ₂	++++
(NH ₄) ₂ OAc	-

※全ての溶液は1Mの最終濃度であった。※※図りは各気合体のミクログラフを用いて主観的に格付けした。「++++」は最善の図りを示し、「+」は最低量の図りを示す。「-」は図りのないことを示す。

図8は幾つかのイオン溶液が形質転換したイー、コリに生成したPHHを酸化することを示す。最も酸化剤は固りの速度及び大きさに関する三つの判別に
基づきCaCl₂であった。CaCl₂の酸化効果は、その速度イェ、エウトロフスに
生成したPHHを酸化しない(即ち、PHHは純粋なアルカリゲネスH
16エウトロフスから得られ、酸化カルシウムで処理して酸化が阻害されない)実
験がなされた。

実験では P 層を酸化するのには高い CaCl_2 の濃度が必要と決定するためになされた。実験においては、反応装置をバッチ・コリアクターを改良し、上述のように変更した。以下に記すのは、1 M 濃度の CaCl_2 を用いて酸化するもの (M-CaCl₂ 濃度) とした。低濃度の CaCl_2 、例えば 0.1 M では、P 層は P 層を酸化するのには非常に長時間を要し、少しかの酸化しか達成できなかった。高濃度の CaCl_2 、例えば 1.0 M 及びそれ以上では、酸化はほとんど瞬間的に行なわれ、大抵は 1 回のフロック凝析とより、その間に必要であった。しかしながら高濃度の CaCl_2 で得られたフロックは元の細胞懸濁液を汚すように見えた。従って高濃度の CaCl_2 は得られたものに置き換えた。0.5 M の CaCl_2 、例えば 0.5 M 及びそれより 3.0 M の範囲に相当。ペレットを作った母液の酸化は約 1 分間の短いインキュベーションで達成された。ペレットの酸化は、酸化された大きな量で高濃度の酸化結果を生成するために 1.0 M CaCl_2 の使用が好ましい。

43.

図5は、P-HBの重合速度制御剤、例えばパイピリジンからなる導体でガスマシク化の固化的により促進することができるところを示す。基において、アレト及び上の分岐の両方(C-M)を有し、 $\text{F}_{-}\text{mu}-\text{C}_{6}\text{H}_{4}\text{GAS}(\text{M})\text{AL}$ 及び $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol CaCl}_2$ の存在でのP-HB重合化を示し、 $\text{F}_{-}\text{mu}-\text{mu}$ はガスマシク化を促進する $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol CaCl}_2$ の存在でのP-HB重合化を示し、 $\text{F}_{-}\text{mu}-\text{C}_{6}\text{H}_{4}\text{GAS}(\text{M})\text{AL}$ 及び CaCl_2 の存在でのP-HB重合化を示し、 $\text{F}_{-}\text{mu}-\text{C}_{6}\text{H}_{4}\text{GAS}(\text{M})\text{AL}$ の存在及び CaCl_2 の存在下でのP-HB重合化を示し、 $\text{F}_{-}\text{mu}-\text{C}_{6}\text{H}_{4}\text{GAS}(\text{M})\text{AL}$ の存在及び CaCl_2 の存在下でのP-HB重合化を示す。図5から、環状炭素の添加による固化的の促進は、その活性を有し、従って、大量の炭素添加でこのような剤の使用によってもよい程度に改良されることを示している。

本発明は、大量のPHBを容易でる形質転換されたイー、コリ株を処理し、一方、PHB生成のため安価な炭酸源、例えばヤエイを使用し、イオン液体、例えばC₂Cl₂がPHBを固定するのに使用できるその好ましい実施態様に関して記載されたが、この分野の前掲書は本発明が添付された請求の範囲の精神及び範囲内で修飾して実施できることを示唆するであろう。

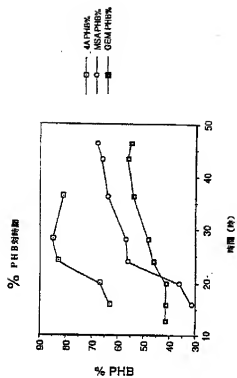


FIG. 1

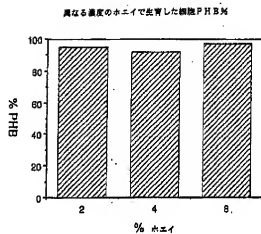


FIG. 2a

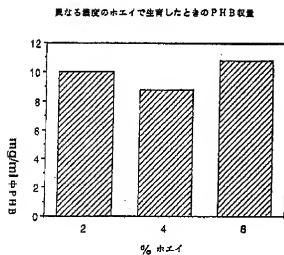


FIG. 2b

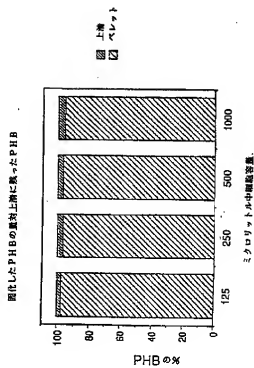
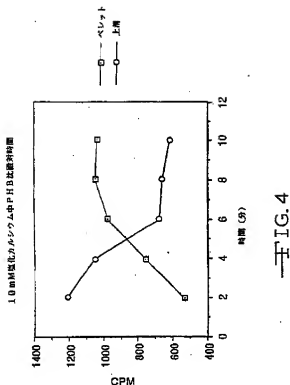
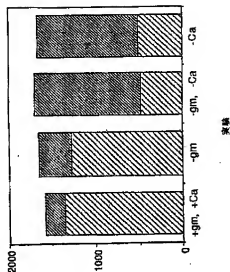


FIG. 3



PHB生成に對するガラスミルカ及びカルシウムの効果



要約書

方法はPHB生成成縮略をコードしている遺伝子を含む形質転換されたイー、
 コリ菌主からPHBの精製を増強することを提供する。PHBをコードしている
 遺伝子をラクトース利用系を含む宿主に導入することによりホエイを含んでいる
 安価な最小培養PHB生成のための食物及び炭酸源として用いることができる。
 PHB生成縮略プラス経路において、最初と最後の遺伝子のどちらかの表の40
 0の食分の塩基をコードするプラスミド、p4Aは、宿主に挿入され、他のプラス
 ミド産物よりも短時間で大量のPHBを生成することを示した。CaCl
 2は形質転換されたイー、コリ菌主に生成したPHBを固定するための効果的な
 固定剤であることを示した。

国際特許文書

<p>1. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>2. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>3. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>4. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>5. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>6. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>7. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>8. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>9. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>10. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>11. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>12. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>13. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>14. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>15. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>16. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>17. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>18. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>19. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>20. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>21. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>22. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>23. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>24. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>25. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>26. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>27. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>28. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>29. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>30. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>31. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>32. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>33. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>34. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>35. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>36. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>37. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>38. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>39. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>40. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>41. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>42. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>43. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>44. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>45. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>46. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>47. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>48. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>49. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>50. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>51. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>52. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>53. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>54. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>55. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>56. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>57. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>58. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>59. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>60. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>61. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>62. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>63. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>64. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>65. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>66. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>67. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>68. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>69. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>70. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>71. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>72. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>73. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>74. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>75. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>76. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>77. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>78. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>79. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>80. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>81. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>82. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>83. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>84. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>85. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>86. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>87. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>88. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>89. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>90. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>91. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>92. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>93. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>94. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>95. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>96. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>97. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>98. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>99. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	
<p>100. INVENTION OF BIOTECHNOLOGY TO IMPROVE PHB PRODUCTION IN ESCHERICHIA COLI</p>	

PCT/US91/02547

8114-4B

V. Claim 13 drawn to a fourth product (plasmid vector).

地を利する能力を有すること多量とする上野工に於て、三に相違あり

- [illegible]

を含む、形質転換されたムセリキア・コリダニチにおいて、 α - β -トドロキ
ノ酸脱羧酵素は必要とするための遺伝子。

- [illegible]

ホエイを含む最小増地に24時間より長い曝露、エセリキア・コリ細菌増殖の誘発を牛乳すること、エセリキア・コリ細菌宿主の各々は近衛内にてリープ・ボドにホエイ増殖は生成する。

栽培液中に該エセリキア・コリ細菌菌王を溶解し、培養液中に胚芽らーぶーと
ドロシ菌種を接種すること。及び

該項リーフ・ヒドロキシ酸が得られること。

- [illegible]

以下、図解を含む。形質転換されたエセルキア・コリ細菌宿主の培養中の細胞内に生成したポリマーヒドロキシ脂肪酸塩を回収する方法であって、宿主はポリマーヒドロキシ脂肪酸塩を合成経路をコードするデオキシリボ糖核酸質を含むベクターにより別形態で提供されていることを特徴とする上記方法。